**様式Ｃ－１９**

# 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：32653
研究種目：基盤研究（B）
研究期間：2010～2012
課題番号：22390337
研究課題名（和文）　敗血症の伴う多臓器不全に対する内皮細胞保護療法

研究課題名（英文）　Endothelial cell rescue therapy of multiorgan failure after severe sepsis

研究代表者
磯谷 栄二（ISOTANI EIJI）
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：90251529

研究成果の概要（和文）：本研究では、重症敗血症患者においてトロンビン制御機構を回復させることで、抗炎症効果を惹起し転帰の改善につなげることを目的とする。
敗血症性 DIC の患者に対して、トロンボモジュリンアルファのランダム化試験を施行中である。現在までにトロンボモジュリンアルファ投与群 18 例・非投与群 24 例エントリーされている。中間解析を行ったところ、投与群では急性期 DIC スコアは有意に早期改善した。、炎症反応においても、非投与群で一旦悪化した後に改善傾向に転じるのに対して、投与群では投与直後から炎症反応の改善がみられる。

研究成果の概要（英文）：**Introduction**: It is expected that recombinant human soluble thrombomodulin (rTM) not only reverses hyper-coagulative status through activating protein C but also prevents multiple organ failure. rTM may improve both physiological scores and the amount of mediators, and reduces the mortality of sepsis and DIC patients in 28 days. We started a new protocol by adding rTM for sepsis and disseminated intravascular coagulation patients. We introduce the preliminary report in this paper.
**Material & Methods**: We enrolled and analyzed 21 patients who were treated for DIC accompanied by sepsis from May to October 2008. Our primary endpoint was mortality in 28 days. As composite outcomes, we followed Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APATCHE II) score, Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score, acute phase DIC score, and serum soluble thrombomodulin, TNF-$\alpha$, IL-1$\beta$, IL-6, HMGB-1, protein C, protein S levels during 10 days. Statistical analysis was performed by Wilcoxon rank-sum test. $P < 0.05$ was regarded as statistically significant.
**Results**: We found that all scores and mediators improved after administration of rTM in Day 10, but there was no significant improvement in at 28 days. Median of each score or mortality was as follows; APATCH II score: 32 at Day 1 to 26 at Day 10 ($p=0.0048$), SOFA score: 12 to 8 ($p=0.0096$), acute phase DIC score: 5 to 3 ($p<0.001$), SIRS score: 3 to 2 ($p=0.0095$), mortality in 28days: 46.9%. Significant adverse effects such as gastrointestinal bleeding, cerebral hemorrhage, and bronchial hemorrhage by using rTM were not observed in this trial.
**Conclusion**: Further investigation will be needed to ascertain whether rTM is effective

for DIC accompanied by sepsis.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合　計 |
|---|---|---|---|
| 2010年度 | 2,700,000 | 810,000 | 3,510,000 |
| 2011年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2012年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総　計 | 6,500,000 | 1,950,000 | 8,350,000 |

研究分野：医歯薬学
科研費の分科・細目：救急医学
キーワード：集中治療医学

１．研究開始当初の背景

2003年Levy等は重症敗血症を血圧低下・臓器への低灌流・臓器不全といった3頭を有する野獣に例え、新たな”bundles”を携えて重症敗血症の治療に当たることを提唱し、翌年surviving sepsis campaignの発表に至った。Surviving sepsis campaignは2008年に改訂されたが、その際中心的役割を担ったVincent等は、血行動態の改善・感染巣のコントロール・sepsisに対する生体反応の制御といった”bundles”を提唱している。1998年にBendtzenは、重症敗血症に随伴する多臓器不全の原因として、エンドトキシンによる好中球の活性化と活性化好中球による内皮細胞障害、さらには内皮細胞の障害による血栓形成を指摘している。内皮細胞障害による capillary leak と血栓形成が各臓器への虚血再還流を招き、これによって臓器障害がもたらされることを発表した。その後、特に本邦を中心として重症敗血症後の凝固異常を改善することが多臓器不全の治療に有効であることが報告されてきた。岡嶋等は、凝固異常による血栓形成をもたらす最終物質であるトロンビンの制御機構として、内皮細胞上に存在するトロンボモジュリンと内皮細胞上のヘパリン様物質でトロンビンと結合するアンチトロンビンを挙げている。

２．研究の目的

我々は重症敗血症に対して血行動態の改善と感染巣のコントロールに加えて<u>内皮細胞障害を如何に改善させるか</u>といった観点に着目した。内皮細胞上には内因性のトロンボモジュリンとアンチトロンビンによるトロンビンの制御機構が存在する。重症敗血症においては内皮細胞障害が生じることで内因性のトロンビン制御機構が失われ、内皮細胞上の血栓形成が生じることで多臓器の虚血再還流障害による多臓器不全が惹起される。トロンボモジュリンアルファおよびアンチトロンビンⅢは播種性血管内凝固症候群の治療薬として認可されており、これらの薬剤による重症敗血症に対する治療効果が期待されている。本研究では、マウス敗血症モデルを作成し、トロンボモジュリンアルファおよびアンチトロンビンⅢの急性肺障害に対する効果を検討することで抗炎症作用の有無を確認する。臨床症例においては既存の治療とトロンボモジュリンアルファを加えた治療のランダム化試験を行うことで、トロンビン制御作用および抗炎症効果を介して重症敗血症患者の転帰改善の有無を評価する。

３．研究の方法

マウス敗血症モデルでは、肺実質に炎症細胞浸潤と肺血管の透過性亢進が見られ、肺実質内の活性化好中球におけるサイトカイン産生に関わるTNF-αの活性化が見られる。このモデルを使ってトロンボモジュリンアルファ(ART123)を後投与したところ、肺実質における炎症性細胞浸潤、血管透過性、TNF-αの活性化のいずれもが有意に抑制された。

この結果は、トロンボモジュリンアルファ(ART123)が抗凝固作用以外に TNF-αの抑制を介した抗炎症作用を有する事を示す。平成23年度には、このモデルを用いて敗血症に伴う急性肺障害に対するトロンボモジュリンアルファ(ART123)とアンチトロンビンⅢの相加効果を確認する。

現行の治療にトロンボモジュリンを加えた場合のpreliminaryな結果としては、生理学的兆候を示す APACHEⅡ・臓器不全を示すSOFA・SIRSやDICスコアいずれも急性期の治療によって改善がみられている。したがって、平成22年度には、重症敗血症患者100例に対して、現行の治療に加えてトロンボモジュリンアルファのランダム化試験をおこなう。上記の各種スコアの推移に加え、各種サイトカインの治療前後の変化、死亡率の改善度等を検討する。

４．研究成果

敗血症に伴う多臓器不全は、虚血再灌流による内皮細胞障害が原因である。敗血症に伴う多臓器不全の治療では、血行動態の改善・感染巣のコントロールに加えて、内皮細胞障害に対する治療方法が必要である。内皮細胞障害による血栓形成の主たる原因物質はトロンビンであり、トロンビンの制御は内皮細胞機能を維持するには不可欠である。内皮細胞上には内因性のトロンボモジュリンとアンチトロンビンによるトロンビンの制御機構が存在するが、敗血症ではこれらの制御機構が破綻することで、さらなる内皮細胞障害を惹起する。また、トロンボモジュリンとアンチトロンビンには抗炎症効果も期待されている。本研究では、重症敗血症患者においてトロンビン制御機構を回復させることで、抗炎症効果を惹起し転帰の改善につなげることを目的とする。

臨床研究

敗血症性DICの患者に対して、トロンボモジュリンアルファのランダム化試験を施行中である。現在までにトロンボモジュリンアルファ投与群18例・非投与群24例エントリーされている。中間解析を行ったところ、投与群では急性期DICスコアは有意に早期改善した。特に血小板数は、非投与群で一旦低下した後に回復傾向に転じるのに対して、投与群では投与直後から血小板数の有意な増加がみられる。また、炎症反応においても、非投与群で一旦悪化した後に改善傾向に転じるのに対して、投与群では投与直後から炎症反応の改善がみられる。これらの結果はトロンボモジュリンアルファの有する抗DIC作用と抗炎症作用に他ならない。

基礎研究

マウスエンドトキシンチャレンジモデルの急性肺障害に対するトロンボモジュリンアルファおよびアンチトロンビンIIIの抗炎症効果を確認する目的で開始した。現在急性肺障害が再現性をもって出現することを確認したところであり、、いまだ薬剤投与の効果判定には至っていない。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計５件）

①Eiji Isotani. Pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. Crit Care

Med. 40(7):2233-2234, 2012
②Sato Y, Isotani E, Kubota Y, Otomo Y, Ohno Y. Circulatory vharacteristics of normovolemia and normotension therapy after subarachnoid hemorrhage, focusing on pulmonary edema. Acta Neurochir (Wien) 154(12):2195-202, 2012.
③磯谷栄二、世良俊樹、牛澤洋人、高橋宏之、大友康裕。敗血症性DIC発症時のATⅢ活性が転帰に及ぼす影響。バイオメディカル　第22巻：47－53、2012
④近藤景介、世良俊樹、牛澤洋人、磯谷栄二、大友康裕。アンチトロンビン値からみた敗血症性DIC患者の予後についての検討。日本救急医学会関東地方会誌　33：140－141、2012
⑤高橋宏之、磯谷栄二、牛澤洋人、若林正和、庄古知久、相星淳一、加地正人、大友康裕。組み換えヒト可溶型トロンボモジュリン(rTM)の敗血症性DIC患者への治療経験。ICUとCCU　35(7):581-584, 2011

〔学会発表〕(計８件)
①牛澤洋人、磯谷栄二、世良俊樹、大友康裕。敗血症性DICに対するリコンビナントトロンボモジュリン(rTM)のランダム化試験(RCT)。第 39 回日本集中治療医学会。幕張メッセ。2012年2月29日。
②Sera T, Isotani E, Ushizawa H, Takahashi H, Otomo Y. Prognostic factors of sepsis with disseminated intravascular coagulation (DIC) patients under administration of antithrombin III in Japan. The 25th annual congress of ESICM. Lisbon. October 15th 2012.
③Ushizawa H, Isotani E, Takahashi H, Sera T, Otomo Y. Randomized controlled trial of novel recombinant human soluble thrombomodulin (rTM) for sepsis with DIC patients in Japan. The 25th annual congress of ESICM. Lisbon. October 15th 2012.
④牛澤洋人、磯谷栄二、高橋宏之、世良俊樹、大友康裕。敗血症性DICにおける組み換えヒト可溶型トロンボモジュリン(rTM)のランダム化比較試験。第40回日本救急医学会総会。京都国際会館。2012年11月14日。
⑤磯谷栄二、牛澤洋人、小林正貴、高橋宏之、大友康裕。敗血症性DIC治療におけるリコンビナントトロンボモジュリン（rTM）の臨床的効果。第 14 回日本臨床救急医学会。札幌コンベンションセンター。2011年6月4日。
⑥Isotani E, Ushizawa H, Takahashi H, Sera T, Otomo Y. The Role of Novel Recombinant Human Soluble Thrombomodulin for Sepsis and Disseminated Intravascular Coagulation Patients. MEMCVI Kos Greek 2011.9.14
⑦磯谷栄二。敗血症に伴う多臓器不全に対する治療戦略。第13回臨床救急医学会。幕張。2010年5月31日。
⑧磯谷栄二。パネルディスカッション 10. 術後合併症としての敗血症・DIC に対する診断と治療。敗血症に伴う多臓器不全に対する治療戦略。第 35 回日本外科系連合学会。シェラトン・グランデ・トーキョーベイ・ホテル。2010年6月18日。

〔図書〕(計２件)
①磯谷栄二。呼吸療法における不思議50。安本和正・小谷透　編　神経原性肺水腫はなぜ起こるのか？34-38,　アトムス2011。
②磯谷栄二。可溶性トロンボモジュリン（外科）。DICのすべて　丸藤哲　編　救急・集中医療 Vol22 総合医学社 No11・22：1627-31, 2010。

ホームページ等
http://www.twmu.ac.jp/DNH/mce/er/index.html

６．研究組織

(1)研究代表者

磯谷栄二（ISOTANI EIJI）
東京女子医科大学・医学部・教授
研究者番号：90251529

(2)研究分担者

大友康裕（OOTOMO YASUHIRO）
東京医科歯科大学・医歯（薬）学総合研究科・教授
研究者番号：40176946